



УКРАЇНА

(19) UA (11) 16964 (13) U  
(51) МПК (2006)  
C12N 7/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ

## ОПИС

### ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під  
відповідальність  
власника  
патенту

**(54) ШТАМ ВІРУСУ ТЯГІНЯ (ТАНІНА) № 4486 ДЛЯ ВИГОТОВЛЕННЯ СПЕЦИФІЧНИХ ІМУНОБІОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ**

1

2

(21) u200511918

(22) 12.12.2005

(24) 15.09.2006

(46) 15.09.2006, Бюл. № 9, 2006 р.

(72) Лозинський Ігор Миколайович, Білецька Галина Вацлавівна, Козловський Михайло Михайлович, Рогочий Євген Георгійович, Семенишин Оксана Богданівна, Федорук Володимир Ілліч, Друль Оксана Стефанівна, Шоломей Михайло Володимирович

(73) ЛЬВІВСЬКИЙ НАУКОВО-ДОСЛІДНИЙ ІНСТИТУТ ЕПІДЕМІОЛОГІЇ ТА ГІГІЄНИ МОЗ УКРАЇНИ, Лозинський Ігор Миколайович

(57) Штам вірусу Тягіня (Tahina) №4486 родини Bunjavididae, роду Bunjavirus, комплексу Каліфорнійського енцефаліту, виділений з комарів *Culex ripiens*, зібраних в активному природному вогнищі цього вірусу у Чорноморському державному заповіднику "Ягорлицький кут" Херсонської області в 1986 році, депонований за №87 від 01.01.2002 року в колекції арбовірусів Львівського НДІ епідеміології та гігієни МОЗ України та є кандидатом для виготовлення специфічного діагностичного та вакцини.

Корисна модель відноситься до медичної вірусології, а саме до лабораторної діагностики і профілактики захворювань, що викликаються вірусом Тягіня.

Для виготовлення діагностичних та лікувально-профілактичних препаратів використовували еталонний штам Bardos-92 [1].

Завданням корисної моделі є новий оригінальний штам вірусу Тягіня №4486, що є етіологічним чинником захворювань людей в Україні і потенційним кандидатом для виготовлення діагностичних та профілактичних імунобіологічних препаратів при цій інфекції.

Вирішити це завдання можливо шляхом використання штаму №4486 вірусу Тягіня, ізольованого у Львівському НДІ епідеміології та гігієни від комарів *Culex ripiens*, зібраних в активному природному вогнищі цього вірусу у Чорноморському державному заповіднику "Ягорлицький кут" Херсонської області в 1986 році [2]. Даний штам депонований за №87 від 01.01.2002 року в колекції арбовірусів Львівського НДІ епідеміології та гігієни, яка згідно Постанови Кабінету Міністрів України №1709 від 19.12.2001р. віднесена до наукових об'єктів, що становлять національне надбання України.

На сьогодні це єдиний штам вірусу Тягіня виділений в Україні [2, 3].

Штам 4486 відноситься до родини Bunjavididae, роду Bunjavirus, комплексу каліфорнійського енцефаліту і характеризується наступними ознаками: він високопатогенний для лінійних і безпородних дорослих та новонароджених білих мишей, при внутрішньомозковому способі зараження викликає типову картину даного захворювання з інкубаційним періодом 3-5 днів.

Показники, наведені в таблиці 1 вказують на те, що штам №4486 відноситься до високовірулентних штамів даної групи вірусів.

На відміну від еталонного штаму Bardos-92, який не має здатності до репродукції в культурі клітин СНЕВ, пропонований нами штам має високу репродуктивну здатність (титр в Ig ТЦД<sub>50</sub> в 0,1мл становить 8,33) з наявністю ЦПД.

Для вивчення фізико-хімічних властивостей штаму вірусу Тягіня використовували мікрометод титрування вірусів у 96-ямкових полістиролових планшетах. Зараження культури клітин СНЕВ здійснювали 10-кратним розведенням 10%-ої суспензії мозку сисунків безпородних білих мишей, інфікованих штамом №4486 на висоті III-V пасажів.

(19) UA (11) 16964 (13) U

Характеристика штаму вірусу Тягіня за ступенем вірулентності для білих мишей

Штам	Вірулентність для білих безпородних мишей Іg ТЦД <sub>50</sub>						
	нбм	2-тижневі			дорослі		
	іс	іс	ір	ІІ	іс	ір	ІІ
4486	6,5	5,4	4,0	1,4	3,0	2,0	1,0

Примітки:

1. іс - внутрішньомозкове інфікування.
2. ір - підшкірне інфікування.
3. ІІ - індекс інвазивності.
4. нбм - новонароджені білі миші.

Вплив фізико-хімічних факторів оцінювали за індексом інактивації, котрий становить різницю в десяткових логарифмах титрів вірусу до і після обробки відповідним чинником 10% суспензії. Для обробки вірусмісткої суспензії використовували 1% розчин дезоксихолату натрію і 100% ефір. Термоінактивацію здійснювали 15 хвилин при 50°C у водяній бані. Контрольний титр в Іg ТЦД<sub>50</sub> в 0,1мл з 8,75 знизився до 5,60, а індекс термоінактивації становить 3,15.

Під дією 1% розчину дезоксихолату натрію цитопатогенний ефект на культурі клітин СНЕВ знижувався з 7,12 до 2,75, а індекс інактивації становить 4,37.

Під впливом ефіру цитопатогенний ефект знижувався з 9,16 до 5,5.

Індекс інактивації - 3,66.

Гемаглютинуюча активність пропонованого штаму при репродукції в мозку мишей становить 1:640, при оптимальному значенні рН - 6,0.

Комплементзв'язуюча активність штаму №4486 вірусу Тягіня з гомологічною імунною сироваткою складала 1:160. При визначенні антигенних зв'язків в РЗК антиген №4486 з імунною сироваткою еталонного штаму Bardos-92 дав титр 1:80, що свідчить про антигенну спорідненість вітчизняного і еталонного штамів.

Отже, штам №4486 вірусу Тягіня можна рекомендувати для виготовлення діагностичного для РЗК та РГА.

Накопичення біомаси штаму №4486 вірусу Тягіня здійснюється класичним способом шляхом пасажування вірусмісного матеріалу в живих чутливих системах, в тому числі в організмі лабораторних мишей. Безпородних білих мишей вагою 6-8 грамів заражають у мозок по 0,03мл вірусною суспензією штаму №4486. При появі виражених паралічів на 4-5 добу мишей забивають за правилами евтаназії, асептично добувають мозок і шля-

хом розтирання мозку у фарфоровій ступці із додаванням фізіологічного розчину готують 10% завісину мозкової тканини. Отриману завісину центрифугують при 1000-1500об/хв протягом 10хв. Рідину, що утворилась над осадом використовують для зараження наступної партії мишей. Після проведення 2-3 пасажів інфікований мозок мишей використовується для приготування діагностичного [4].

Таким чином, єдиний виділений в Україні патогенний для людини штам №4486 вірусу Тягіня проявляє високу специфічність, антигенну, імунотипову та репродуктивну активність і відповідає регламентованим параметрам відбору штамів-кандидатів для виробництва імунобіологічних препаратів [5].

Використання цього штаму для виготовлення специфічного діагностичного та культуральної вакцини дозволить суттєво підвищити достовірність діагностики та ефективність профілактики захворювань лихоманкою Тягіня в Україні та в країнах, де циркулюють споріднені збудники.

Джерела інформації

1. Львов Д.К., Клименко С.М., Гайдамович С.Я. //Арбовирусы и арбовирусные инфекции. -М.: Медицина, -1989. -335
2. Виноград И.А. Арбовирусы в Украинской ССР и их медико-биологическое значение: Дис. д-ра мед. наук. -Львов, 1983. -505с.
3. Лозинский И.М., Виноград И.А. Арбовирусы та арбовірусні інфекції у лісостеповій зоні України //Мікробіол. журнал. -1998. -т.60, №2. -С.49-60.
4. Арбовирусы. Сборник научных трудов. - Москва, 1986 -180с.
5. Верета Л.А., Воробьева М.С. Природная гетерогенность и целенаправленный отбор штаммов вируса клещевого энцефалита //Москва.: Медицина -1990. -123с.